RÉSUMÉ DE THÈSE

Étude de l'expression de gènes impliqués dans les fonctions ovariennes en période post-ovulatoire chez les salmonidés, par Julien BOBE, INRA, SCRIBE, Sexualité et Reproduction des Poissons, Campus de Beaulieu, 35042 Rennes Cedex, FRANCE. [bobe@beaulieu.rennes.inra.fr]

Thèse de Doctorat en Biologie, Université de Rennes 1, 2001, 94 p., 3 tabs, 44 figs.

Afin de mieux comprendre les fonctions de l'ovaire post-ovulatoire des salmonidés, nous avons entrepris d'identifier des gènes différentiellement exprimés dans l'ovaire post-ovulatoire de saumon de fontaine (*Salvelinus fontinalis*) ou de truite arc-en-ciel (*Oncorhynchus mykiss*). En utilisant des populations d'ADN complémentaires obtenus à partir d'ovaires de femelles sacrifiées à l'ovulation et après l'ovulation, nous avons identifié des transcrits dont les niveaux d'accumulation varient entre ces stades. Ce travail a tout d'abord été effectué par «!differential display PCR!» (DDPCR), puis par «!suppression subtraction hybridization!» (SSH). Nous avons ainsi identifié une dizaine de transcrits dont deux avaient préalablement été isolés et étudiés dans l'ovaire périovulatoire de saumon de fontaine. Nous avons étudié l'expression de cinq des nouveaux transcrits dans l'ovaire périovulatoire ainsi que dans différents tissus ou organes. Pour quatre de ces transcrits, nous avons produit des protéines recombinantes de fusion et préparé leurs anticorps chez le lapin. La caractérisation de l'expression de ces gènes a alors pu être précisée en effectuant le suivi immunologique de la protéine dans le tissu ovarien et le liquide cœlomique (dans lequel baignent les ovules après l'ovulation). Nous avons également localisé dans l'ovaire certains des transcrits et/ou des protéines sur coupes histologiques. L'expression de récepteurs aux TNF (Tumor Necrosis Factor) dans l'ovaire post-ovulatoire suggère que des phénomènes d'apoptose interviennent dans l'ovaire à ce stade. Nous avons également détecté une enzyme gastrique, probablement fonctionnelle, et présente dans l'ovaire quelques jours après l'ovulation ainsi qu'un inhibiteur des cystéine protéases fortement exprimé dans les ovocytes en prévitellogenèse ou en début de vitellogenèse. Enfin, la période post-ovulatoire est caractérisée par la diminution de l'expression de protéines qui, elles, interviendraient au moment de l'ovulation.

Summary. - Differentially expressed genes in the trout postovulatory ovary.

In order to better understand the postovulatory ovarian functions of the salmonids, we have looked for differentially expressed genes in brook (*Salvelinus fontinalis*) and rainbow (*Oncorhynchus mykiss*) trout postovulatory ovarian tissue. Thus, we used differential display PCR (DDPCR) and suppression subtraction hybridisation (SSH) to isolate differentially expressed cDNAs between ovulatory and postovulatory ovarian tissue samples. Of the nine differentially expressed cDNAs isolated in this survey, two had previously been characterised in the brook trout periovulatory ovary. We studied the expression of five transcripts in ovulatory and postovulatory ovarian tissue as well as several other tissues. For four of these genes, we produced a recombinant fusion protein that we injected into rabbits in order to obtain antibodies. The presence of these proteins in ovarian tissue and coelomic fluid (that bathes ovulated eggs) was studied by Western analysis. Localisation of the transcript or the protein was performed on ovarian sections. The expression of TNFR (Tumor Necrosis Factor Receptor) in the trout postovulatory ovary suggests that apoptosis is involved in the regulation of ovarian functions at this stage. In addition, we identified a gastric protease that is presumably active in the ovary a few days following ovulation. We also isolated a cDNA coding for a cysteine protease inhibitor immunodetected in pre- and early vitellogenic oocytes from the brook trout periovulatory ovary. Finally, the postovulatory period is also characterised by the down-regulation of genes potentially involved in ovulation.

Key words. - Salmonidae - *Oncorhynchus mykiss* - *Salvelinus fontinalis* - Ovary - Ovulation - Post-ovulation - Differential display PCR - Suppression subtraction hybridisation - Gene expression.